

Hedgehog-GLI信号通路在胰腺癌发生中的作用

郭杰芳, 高军, 李兆申

郭杰芳, 高军, 李兆申, 上海第二军医大学附属长海医院消化内科 上海市 200433

通讯作者: 李兆申, 200433, 上海市, 上海第二军医大学附属长海医院消化内科. zhsl@81890.net

电话: 021-25070552

收稿日期: 2006-10-31 接受日期: 2007-03-07

Role of Hedgehog-GLI signaling pathway in the tumorigenesis of pancreatic cancer

Jie-Fang Guo, Jun Gao, Zhao-Shen Li

Jie-Fang Guo, Jun Gao, Zhao-Shen Li, Department of Gastroenterology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Correspondence to: Zhao-Shen Li, Department of Gastroenterology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China. zhsl@81890.net

Received: 2006-10-31 Accepted: 2007-03-07

Abstract

Recently, a series of researches have shown that uncontrolled activation of Hedgehog-GLI signaling pathway involved in the formation and maintenance of pancreatic cancer. GLI gene family, as the direct transcriptional mediator of target gene acting at the distal end of the Hh pathway, plays a crucial role in the process of tumorigenesis. In this review we focused on the role of Hedgehog-GLI signaling in the tumorigenesis of pancreatic cancer, the mechanisms that regulate the activity of oncogenic GLI, and the potential therapeutic strategies targeted on Hedgehog-GLI pathway.

Key Words: Pancreatic neoplasm; Hedgehog signaling pathway; GLI transcriptional factor; Gene therapy

Guo JF, Gao J, Li ZS. Role of Hedgehog-GLI signaling pathway in the tumorigenesis of pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(10):1137-1140

摘要

近年来研究发现Hedgehog-GLI信号转导通路的异常激活参与胰腺癌的发生及恶性生物学特性的维持. GLI指转录因子作为该信号通

路末端的靶基因直接调控子,在这一过程中起着非常重要的作用. 本文就Hedgehog-GLI信号通路在胰腺癌发生中的作用、GLI转录活性的调控及致癌作用、Hedgehog-GLI通路的靶向治疗价值等方面的研究进展作一综述.

关键词: 胰腺癌; Hedgehog信号通路; GLI转录因子; 基因治疗

郭杰芳, 高军, 李兆申. Hedgehog-GLI信号通路在胰腺癌发生中的作用. *世界华人消化杂志* 2007;15(10):1137-1140

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/1137.asp>

0 引言

在胚胎发生过程中, Hedgehog-GLI(Hh-GLI)信号转导通路参与调控胰腺的正常发育,而在正常的成熟胰腺组织中无表达或仅轻度表达^[1]. 近年来随着研究的不断深入,人们发现该信号通路的异常激活对人胰腺癌的发生和恶性生物学特性的维持极为重要^[1-5]. GLI作为该通路末端的转录调控子,在这一致癌过程中起着非常重要的作用. 本文就Hh-GLI在胰腺癌发生中的作用、GLI转录因子的转录活性及致癌作用、Hh-GLI通路对胰腺癌的潜在靶基因治疗价值等方面的研究进展作一综述.

1 Hh-GLI信号转导通路在胰腺癌中的作用

Hh-GLI信号通路首先在果蝇中发现,随后又在脊椎动物中被证实. 他主要由HH配体、两个膜受体Ptch, Smo及下游的转录因子GLI组成. HH是一种胞外配体,由许多器官的分泌细胞产生. HH先经自身催化剪切掉C-末端,然后胆固醇共价连接于HH-N的C末端,表示为HH-Np. HH-Np的N末端进一步棕榈酰化,使之成为具有信号转导功能的蛋白,可与膜受体Ptch相结合. Ptch是一种12跨膜蛋白受体, Smo是一种7跨膜蛋白受体,属于G蛋白偶联受体超家族. 在没有HH蛋白存在时, Ptch通过与Smo结合抑制了Smo的活性,阻止了信号的传递;一旦HH蛋白与Ptch结合, Ptch对Smo的抑制作用就被解除, Smo将Hh信号

■背景资料

近年来研究发现Hedgehog信号通路的过度激活与多种常见人类恶性肿瘤的发生、发展密切相关,其中包括胰腺癌. 这些Hh相关性肿瘤中均存在一种或多种Hh重要信号成员的异常表达. 这些发现使胰腺癌的发病机制研究进入一个新的阶段, Hh信号通路在胰腺癌发生、发展中的作用及具体机制备受关注.

■研究前沿

GLI是Hedgehog通路末端的锌指转录因子,直接调控着下游靶基因的转录,从而引起一系列生物学效应,因此GLI在该通路的信号转导及致肿瘤过程中发挥着重要作用。目前关于GLI转录活性的调控及其对下游靶基因的调控机制已成为研究的热点。

向胞内传递,最终导致下游的GLI全长修饰为转录激活因子,进入细胞核内激活靶基因的转录^[3]。

近年来随着对Hh-GLI信号通路研究的不断深入,发现该通路的异常调控对多种人类恶性肿瘤的发生、发展极为重要^[6],其中包括胰腺癌。胰腺癌的发生及其恶性生物学特性的维持与Hh信号转导通路的过度激活密切相关^[7-8]。研究发现该信号通路虽然在胰腺胚胎发育过程中起着非常重要的调控作用,但该通路各信号成员的过度表达是引起人胰腺癌发生的重要的早期及晚期介导因子。目前认为胰腺癌起源于胰腺导管上皮细胞。最近一项关于胰腺癌发展模型的研究提出,胰腺癌的发生是胰腺导管上皮细胞先发展为胰腺上皮内瘤变(pancreatic intraepithelial neoplasia, PanIN)后再进一步发展而来的。PanIN是胰腺癌的癌前病变,根据病理形态学改变的严重程度又可分为PanIN-1A, PanIN-1B, PanIN-2, PanIN-3。对不同时期PanIN及胰腺癌进行分析,结果发现随着病变从PanIN向胰腺癌逐步发展,病变组织中Hh信号通路成员的表达水平也呈急剧上升^[9-10]。Berman *et al*^[11]用定量RT-PCR的方法对15例新鲜胰腺癌标本进行Ptch mRNA表达水平的精确检测,发现在胰腺癌中Ptch mRNA的平均水平高于临近正常组织448倍。而对Hh信号通路成员的功能学研究也支持Hh通路的过度激活会诱导胰腺癌发生这一观点。如Thayer *et al*^[12]构建了胰腺癌特异性Pdx-1启动子驱动Shh表达的转基因小鼠模型,采用原位杂交检测Shh mRNA,同时通过HE染色及免疫组化染色对小鼠胰腺进行分析并检测Shh蛋白,结果发现Pdx-Shh转基因小鼠的胰腺内胚层异常表达Shh,同时胰腺上皮出现异常的管状结构,类似PanIN的表型结构,而且这些异常的管状结构也含有K-ras基因突变及HER-2/neu的过度表达。已知这两种基因突变及异常表达是胰腺癌发生的早期事件。这些研究结果表明,Hh信号通路过度激活与胰腺癌的癌前病变密切相关。Thayer *et al*^[12]还对Hh信号通路中重要成员进行检测,发现在正常小鼠和人胰腺组织中Ptch1无表达,Smo无表达或仅在少量上皮及散在腺泡内表达;而Pdx-Shh转基因小鼠胰腺异常上皮和人胰腺癌组织中Ptch1及Smo异常高表达,且在胰腺癌异常上皮周围的反应性间质细胞中也可检测到Ptch1及Smo。此外,Thayer *et al*^[12]还对26株来自原发及继发性胰腺癌的细胞系进行Hh信号成员的筛查,结果所有细胞株均可检测到2种或

2种以上Hh信号成员(Ptch1, Smo, Hip, GLI1)的表达。Hh信号成员在胰腺癌及其周围间质组织中的过度表达提示,Shh信号可能是通过旁分泌和自分泌的方式引起以胰腺癌为特征的病理形态学改变^[1,12]。Berman *et al*^[11]用抗Hh抗体阻断胰腺癌细胞中Hh信号通路,结果发现这些癌细胞的生长受到明显抑制,这也为胰腺癌细胞恶性生物学特性的维持依赖于Hh通路的激活提供了进一步依据。以上研究结果均表明,无论是在体内还是体外,Hh信号通路的过度激活对人胰腺癌的发生及发展都非常重要。

2 GLI转录因子的转录活性及致癌作用

Hh信号通路的激活最终引起通路末端转录因子GLI全长修饰激活,进入细胞核启动靶基因的转录。一系列GLI功能获得或缺失的研究表明,GLI蛋白作为Hh通路末端的转录调控因子,在Hh相关性肿瘤的发生、发展中是必不可少的^[2]。Hh相关性肿瘤的共同特征是肿瘤组织内有一种或多种GLI转录因子表达水平的提高^[2]。

脊椎动物存在3种GLI转录因子(GLI1, GLI2, GLI3)。他们的结构与功能有所不同,转录调控过程比较复杂^[13]。这3种GLI蛋白均含有高度保守的DNA结合区,后者构成锌指结构域。3种蛋白均有C末端的激活区,但只有GLI2和GLI3具有N末端的抑制区。目前研究发现GLI1是一种具有很强活性的转录激活因子^[14-17]。这可能与GLI1不含有N末端的抑制区、不会被蛋白酶水解有关。而GLI3主要是转录抑制因子^[18-19]。GLI2兼有转录激活与抑制双重功能,但他主要以转录激活因子形式存在,其转录激活功能比GLI3强,但比GLI1弱^[20]。3种转录因子中,GLI1是一种直接的转录激活因子,其激活调控发生在转录水平。事实上,GLI1 mRNA的表达水平是反映HH信号通路活性的一个可靠指标。而GLI2和GLI3则是潜在的转录激活因子。GLI2和GLI3含有N末端抑制区,只有将N末端蛋白酶解掉或使之发生磷酸化修饰后才可产生转录激活形式的GLI2, GLI3蛋白。

目前已有不少研究对GLI的转录调控及致癌机制进行了初步探索。研究发现,在许多细胞中,Hh信号通路的激活可导致G1/S和G2/M细胞周期调节因子的表达增高。这些细胞周期调节因子可促进细胞从生长静止状态向增殖活跃状态转化^[21]。如在许多Hh反应性细胞中,细胞周期调节蛋白Cyclin D2的表达上调了,其转录直接

受Hh通路信号刺激的调控. 给予重组的Shh蛋白可诱导小鼠中胚层细胞内Cyclin D2 mRNA的表达. GLI转录因子还会延长细胞的存活期. Regl *et al*^[22]报道, GLI1, GLI2可激活真皮细胞内抗凋亡因子Bcl-2的转录. Bcl-2的转录是由于GLI的锌指结构域与位于Bcl-2转录起始位点上游的GLI结合位点相互结合所引起的. 此外, Hh信号通路的过度激活还会提高肿瘤细胞的侵袭性. Karhadkar *et al*^[23]报道, 给予Hh信号通路的拮抗剂环杷明后, 前列腺癌细胞株的侵袭性及转移性显著降低, 而GLI1的过度表达会促进低侵袭性细胞向高侵袭性转化. 该研究还发现GLI1的过度表达会促进另一转录因子Snail的表达上调, 后者在促进上皮组织向间质转化的过程中起重要作用. 上皮组织向间质的转化与肿瘤细胞侵袭性增高及发生转移有关. 给予环杷明治疗后, 这些转移性前列腺癌细胞Snail mRNA的表达水平降低了, 提示Hh信号通路可能是通过上调Snail的表达, 诱导上皮组织转化为间质, 从而提高细胞的侵袭性, 引起肿瘤发生转移.

总之, GLI转录因子主要通过以下机制直接诱导肿瘤的发生: 诱导G1/S细胞周期调节蛋白的表达从而促进细胞的增殖; 直接诱导抗凋亡因子Bcl-2的表达以抑制凋亡; 直接激活可促进上皮组织向间质转化的因子的转录以提高肿瘤的侵袭性. 随着对Hh信号通路及GLI靶基因的不断深入研究, 将发现更多Hh信号通路的致癌机制.

3 Hh-Gli对胰腺癌的潜在靶向治疗价值

由于Hh-Gli在胰腺癌发生、发展中的重要作用, 针对该通路的特异性靶向治疗可能会成为临床上一项有效的治疗胰腺癌的新措施^[6]. 目前该方面的实验研究已取得初步进展. Berman *et al*^[11]用抗HH抗体与6株裸鼠胰腺癌异植瘤细胞进行体外共培养, 结果有4株细胞在治疗后活细胞比率显著下降. Thayer *et al*^[12]用Smo小分子拮抗剂环杷明与5株人胰腺癌细胞株进行共培养, 结果有2株细胞的细胞密度和形态发生显著变化, 而且2株Smo高表达细胞株与对照组相比凋亡增加2.5-3.5倍, 增殖率下降75%-80%; 用对环杷明敏感的细胞株接种裸鼠, 并用环杷明进行瘤内注射治疗, 结果1 wk后治疗组50%-60%肿瘤的生长受到抑制, 肿瘤体积明显缩小. Gao *et al*^[24]构建Ptch1启动子介导反义Smo表达的腺病毒载体, 用于感染5株人胰腺癌细胞株, 结果发现表达Ptch1, Smo及GLI1的3株细胞株增殖

减弱, 凋亡增加; 体内试验也发现瘤内注射反义Smo的腺病毒载体抑制裸鼠皮下种植瘤的生长, 病理提示与对照组相比, 肿瘤细胞的凋亡明显增多. 尽管这些研究取得令人鼓舞的结果, 但这些治疗方法仍有很多局限性^[2]. 如Gao的研究发现, 未表达Smo的2株胰腺癌细胞株的生长不受表达反义Smo腺病毒治疗的影响, 提示反义Smo腺病毒治疗只对Smo高表达细胞具有细胞特异性毒性^[24]. Thayer的研究也发现26株胰腺癌细胞系均表达GLI1, 但只有部分胰腺癌细胞株对环杷明敏感, 还有部分细胞株不敏感, 这提示对环杷明不敏感的胰腺癌细胞可能是通过Smo下游通路发生激活性突变而维持其增殖的^[7]. 抗Shh抗体只能用于治疗Hh信号通路的激活发生在Shh配体及其受体水平的肿瘤, 对其下游通路的激活而导致的肿瘤无效. 环杷明只能用于治疗Hh信号通路的激活发生于Smo或其上游水平的肿瘤. 而因Hh信号通路抑制因子Sufu的功能缺失性突变或其下游激活而引起的肿瘤, 对环杷明的治疗则无明显效果^[6]. 而且环杷明对人体会产生许多毒副作用, 这也限制了他作为药物在临床上的应用. 因此, 临床上有必要进一步发掘更有效的、更具特异性的治疗靶点. 而GLI是Hh信号通路末端的转录调控因子, 是该通路发生不同水平激活的最后共同通道. 他可直接调控通路靶基因的转录和表达, 在Hh相关性肿瘤(包括胰腺癌)的发生、发展中起重要的作用. 因此阻断GLI转录因子的活性, 将可能成为一种治疗胰腺癌及其他Hh相关肿瘤的理想、有效的方法^[2]. 虽然目前关于GLI靶向性基因治疗的研究仍处于实验阶段, 但他有望用于治疗Hh信号通路各个水平激活引起的肿瘤, 因此具有非常广阔的应用前景.

总之, Hh-Gli信号通路的异常激活可导致人胰腺癌的发生. GLI是该通路末端直接调控靶基因的转录因子, 是该通路不同水平激活的最后共同通道, 在这一致癌过程中起着重要的作用. GLI靶向性基因治疗, 可能成为一种治疗胰腺癌的理想、有效的方法.

4 参考文献

- 1 Lau J, Kawahira H, Hebrok M. Hedgehog signaling in pancreas development and disease. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63: 642-652
- 2 Kasper M, Regl G, Frischauf AM, Aberger F. GLI transcription factors: mediators of oncogenic Hedgehog signalling. *Eur J Cancer* 2006; 42: 437-445
- 3 Kaye H, Kleeff J, Osman T, Keleg S, Buchler MW,

■应用要点

针对Hh通路的特异性靶向基因治疗为Hh相关性肿瘤的治疗开辟了一条新途径. GLI是Hh通路发生不同水平激活的最后共同通路, 因此特异性阻断GLI的转录功能, 将可能成为Hh相关性肿瘤治疗理想有效的新靶点.

同行评价

本文介绍了Hedgehog-Gli信号转导通路在胰腺癌发生中的作用、Gli转录活性的调控及致病作用、Hedgehog-Gli通路的靶向基因治疗价值等方面的研究进展,内容新颖,实用性强,对临床Hh相关性肿瘤(包括胰腺癌)的治疗有一定的理论指导意义。

- 4 Friess H. Hedgehog signaling in the normal and diseased pancreas. *Pancreas* 2006; 32: 119-129
- 4 Hezel AF, Kimmelman AC, Stanger BZ, Bardeesy N, Depinho RA. Genetics and biology of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Genes Dev* 2006; 20: 1218-1249
- 5 Furukawa T, Sunamura M, Horii A. Molecular mechanisms of pancreatic carcinogenesis. *Cancer Sci* 2006; 97: 1-7
- 6 Stecca B, Ruiz i Altaba A. The therapeutic potential of modulators of the Hedgehog-Gli signaling pathway. *J Biol* 2002; 1: 9
- 7 Kaye H, Kleeff J, Keleg S, Buchler MW, Friess H. Distribution of Indian hedgehog and its receptors patched and smoothened in human chronic pancreatitis. *J Endocrinol* 2003; 178: 467-478
- 8 Kaye H, Kleeff J, Esposito I, Giese T, Keleg S, Giese N, Buchler MW, Friess H. Localization of the human hedgehog-interacting protein (Hip) in the normal and diseased pancreas. *Mol Carcinog* 2005; 42: 183-192
- 9 Bardeesy N, Depinho RA. Pancreatic cancer biology and genetics. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 897-909
- 10 Hruban RH, Adsay NV, Albores-Saavedra J, Compton C, Garrett ES, Goodman SN, Kern SE, Klimstra DS, Kloppel G, Longnecker DS, Luttges J, Offerhaus GJ. Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new nomenclature and classification system for pancreatic duct lesions. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 579-586
- 11 Berman DM, Karhadkar SS, Maitra A, Montes De Oca R, Gerstenblith MR, Briggs K, Parker AR, Shimada Y, Eshleman JR, Watkins DN, Beachy PA. Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours. *Nature* 2003; 425: 846-851
- 12 Thayer SP, di Magliano MP, Heiser PW, Nielsen CM, Roberts DJ, Lauwers GY, Qi YP, Gysin S, Fernandez-del Castillo C, Yajnik V, Antoniu B, McMahon M, Warshaw AL, Hebrok M. Hedgehog is an early and late mediator of pancreatic cancer tumorigenesis. *Nature* 2003; 425: 851-856
- 13 Aza-Blanc P, Kornberg TB. Ci: a complex transducer of the hedgehog signal. *Trends Genet* 1999; 15: 458-462
- 14 Chen CH, von Kessler DP, Park W, Wang B, Ma Y, Beachy PA. Nuclear trafficking of Cubitus interruptus in the transcriptional regulation of Hedgehog target gene expression. *Cell* 1999; 98: 305-316
- 15 Bai CB, Joyner AL. Gli1 can rescue the *in vivo* function of Gli2. *Development* 2001; 128: 5161-5172
- 16 Dai P, Akimaru H, Tanaka Y, Maekawa T, Nakafuku M, Ishii S. Sonic Hedgehog-induced activation of the Gli1 promoter is mediated by Gli3. *J Biol Chem* 1999; 274: 8143-8152
- 17 Karlstrom RO, Tyurina OV, Kawakami A, Nishioka N, Talbot WS, Sasaki H, Schier AF. Genetic analysis of zebrafish gli1 and gli2 reveals divergent requirements for gli genes in vertebrate development. *Development* 2003; 130: 1549-1564
- 18 Aoto K, Nishimura T, Eto K, Motoyama J. Mouse Gli3 regulates Fgf8 expression and apoptosis in the developing neural tube, face, and limb bud. *Dev Biol* 2002; 251: 320-332
- 19 Persson M, Stamatakis D, te Welscher P, Andersson E, Bose J, Ruther U, Ericson J, Briscoe J. Dorsal-ventral patterning of the spinal cord requires Gli3 transcriptional repressor activity. *Genes Dev* 2002; 16: 2865-2878
- 20 Mao J, Maye P, Kogerman P, Tejedor FJ, Toftgard R, Xie W, Wu G, Wu D. Regulation of Gli1 transcriptional activity in the nucleus by Dyrk1. *J Biol Chem* 2002; 277: 35156-35161
- 21 Kenney AM, Rowitch DH. Sonic hedgehog promotes G(1) cyclin expression and sustained cell cycle progression in mammalian neuronal precursors. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 9055-9067
- 22 Regl G, Kasper M, Schnidar H, Eichberger T, Neill GW, Philpott MP, Esterbauer H, Hauser-Kronberger C, Frischauf AM, Aberger F. Activation of the BCL2 promoter in response to Hedgehog/Gli signal transduction is predominantly mediated by Gli2. *Cancer Res* 2004; 64: 7724-7731
- 23 Karhadkar SS, Bova GS, Abdallah N, Dhara S, Gardner D, Maitra A, Isaacs JT, Berman DM, Beachy PA. Hedgehog signalling in prostate regeneration, neoplasia and metastasis. *Nature* 2004; 431: 707-712
- 24 Gao J, Li Z, Chen Z, Shao J, Zhang L, Xu G, Tu Z, Gong Y. Antisense Smo under the control of the PTCH1 promoter delivered by an adenoviral vector inhibits the growth of human pancreatic cancer. *Gene Ther* 2006; 13: 1587-1594

电编 张敏 编辑 张焕兰